

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.06.037

## 六味地黄丸组方对前交叉韧带损伤患者 TGF- $\beta$ 1、BMP-2 基因表达及术后功能康复的影响\*

陈能 吕燃 谭方 李敏龙 朱东平 关颖欣

(广州中医药大学第二附属医院 / 广东省中医院珠海医院骨一科 广东 珠海 519000)

**摘要 目的:**探讨六味地黄丸组方对前交叉韧带损伤(ACL)损伤患者 ACL 组织转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)基因表达及 ACL 重建术后功能康复的影响。**方法:**选取 2021 年 1 月-2021 年 9 月期间在广东省中医院珠海医院骨一科住院的拟行膝关节镜下 ACL 重建术治疗的 ACL 损伤患者 60 例,按随机数字表法分为观察组和对照组,每组 30 例。观察组术前 2 周开始口服六味地黄丸组方,且术后继续服用六味地黄丸组方至少 1 月,对照组不予服用药物。术中采集患者损伤之前交叉韧带组织,实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测韧带组织的 TGF- $\beta$ 1 和 BMP-2 基因表达,并对患者进行 IKDC 评分、Lysholm 评分以及安全性评价。**结果:**观察组 TGF- $\beta$ 1 基因表达高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。两组术前 IKDC 评分和 Lysholm 评分比较差异均无统计学意义(均  $P>0.05$ )。两组 IKDC 评分和 Lysholm 评分与治疗时间之间有显著性交互效应(均  $P<0.01$ ),两组 IKDC 评分和 Lysholm 评分总体均值有显著性差异(均  $P<0.01$ )。两组术后 1 周-术后 1 月,术后 1 月-术后 3 月 IKDC 评分和 Lysholm 评分有显著性差异(均  $P=0.000$ );与对照组比较,治疗组术后 1 月、术后 3 月 IKDC 评分和 Lysholm 评分有显著性差异(均  $P=0.000$ )。两组患者在治疗期间均未发生不良事件。**结论:**六味地黄丸组方可提高 ACL 损伤患者腱骨界面处 ACL 组织 TGF- $\beta$ 1 基因表达,促进 ACL 重建术后关节功能康复。

**关键词:**六味地黄丸组方;前交叉韧带损伤;TGF- $\beta$ 1;BMP-2;前交叉韧带重建术;功能康复

**中图分类号:**R686;R243 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)06-1174-06

## Effects of Liuwei Dihuang Pills Prescription on TGF- $\beta$ 1, BMP-2 Gene Expression and Postoperative Functional Rehabilitation in Patients with Anterior Cruciate Ligament Injury\*

CHEN Neng, LÜ Ran, TAN Fang, LI Min-long, ZHU Dong-ping, GUAN Ying-xin

(First Department of Orthopedics, Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine/Zhuhai Hospital of Guangdong Province Traditional Chinese Medical Hospital, Zhuhai, Guangdong, 519000, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effect of Liuwei Dihuang Pill Prescription on transforming growth factor- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1) and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) gene expression in ACL tissue and functional recovery rehabilitation after ACL reconstruction in patients with anterior cruciate ligament(ACL)injury. **Methods:** A total of 60 patients with ACL injury who were hospitalized in the First Department of Orthopedics, Zhuhai Hospital of Guangdong Province Traditional Chinese Medical Hospital from January 2021 to September 2021 and were to undergo knee arthroscopy with ACL reconstruction were selected and divided into observation group and control group by random number table method, 30 cases in each group. The observation group started to take Liuwei Dihuang Pill Prescription 2 weeks before operation, and continued to take Liuwei Dihuang Pill Prescription for at least 1 month after the operation, while the control group did not take drugs. The cruciate ligament tissue before the injury was collected during the operation, and the gene expression of TGF- $\beta$ 1 and BMP-2 in the ligament tissue was detected by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR). **Results:** The expression of TGF- $\beta$ 1 gene in the observation group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in preoperative IKDC score and Lysholm score between the two groups (all  $P>0.05$ ). There was a significant interaction effect between the two groups of IKDC score and Lysholm score and treatment time (all  $P<0.01$ ), and there was a significant difference in the overall mean of IKDC score and Lysholm score between the two groups (all  $P<0.01$ ). There were significant differences in IKDC score and Lysholm score between the two groups from 1 week to 1 month after operation, and from 1 month to 3 months after operation (all  $P=0.000$ ). Compared with the control group, there were significant differences in the IKDC score and Lysholm score of the treatment group at 1 month and 3 months after the operation (all  $P=0.000$ ). No adverse events occurred in the

\* 基金项目: 广东省科技计划项目(2017ZC0209); 广东省中医药局科研项目(20202211); 珠海市科技计划医疗卫生项目(一般项目)(ZH22036201210075PWC); 珠海市医学科研基金项目(20191206A010015); 珠海市医学科研基金项目(ZH3310200005PJL)

作者简介: 陈能(1987-), 男, 博士, 主治医师, 研究方向: 骨关节与运动医学, E-mail: canmaster@163.com

(收稿日期: 2021-09-23 接受日期: 2021-10-18)

two groups of patients during the treatment period. **Conclusion:** Liuwei Dihuang Pills Prescription can increase the expression of TGF- $\beta$ 1 gene in ACL tissue at the tendon-bone interface of patients with ACL injury, and promote joint functional recovery after ACL reconstruction.

**Key words:** Liuwei Dihuang Pill Prescription; Anterior cruciate ligament injury; TGF- $\beta$ 1; BMP-2; Anterior Cruciate Ligament Reconstruction; Functional rehabilitation

**Chinese Library Classification(CLC):** R686; R243 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2022)06-1174-06

## 前言

关节镜下前交叉韧带(Anterior Cruciate Ligament, ACL)重建术是目前治疗 ACL 损伤的主要治疗手段<sup>[1]</sup>。虽然文献报道 ACL 重建的成功率为 69%-95%<sup>[2]</sup>,但只有不足 50% 患者术后膝关节活动度可恢复至术前水平<sup>[3]</sup>。腱骨愈合是影响术后疗效最主要的生物学因素。虽然 ACL 重建术可以恢复腱骨连接,但由于肌腱与骨髓道连接处腱骨界面的生物结构复杂,容易发生腱骨愈合不良或不愈合。因此,如何促进 ACL 重建术后腱骨愈合,是目前运动医学研究的热点<sup>[4]</sup>。随着研究的不断深入,越来越多促进腱骨愈合的方法被发现和认可,应用以转化生长因子- $\beta$  (Transforming Growth Factor, TGF- $\beta$ )、骨形态发生蛋白-2 (Bone Morphogenetic Protein, BMP-2) 为主的生长因子是其中一种方法<sup>[5]</sup>。有研究表明滋阴补肾中药六味地黄丸可促进 ACL 重建术后腱骨愈合,并改善术后组 Lysholm 客观评分及 IKDC 主观评分<sup>[6]</sup>,也有文献表明该药可提高人体内骨组织 TGF- $\beta$ 1、

BMP-2 水平<sup>[7]</sup>。在既往研究基础上,本研究进一步探讨滋阴补肾中药六味地黄丸组方对 ACL 损伤患者 ACL 组织 TGF- $\beta$ 1、BMP-2 基因表达及 ACL 重建术后功能康复的影响,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2021 年 1 月-2021 年 9 月期间在广东省中医院珠海医院骨一科住院的拟行膝关节镜下 ACL 重建术治疗的中医辨证为平和体质或阴虚体质的 ACL 损伤患者。所有病例均为诊断明确的单纯 ACL 损伤的患者,或者 ACL 损伤合并半月板损伤,且不合并其他韧带损伤的患者,查体有明确的前抽屉试验阳性, MRI 检查结果证实有 ACL 损伤,并在术中明确为 ACL 损伤的患者。共纳入 60 例患者为研究对象,把研究对象按随机数字表法随机分为观察组和对照组,每组 30 例,两组患者基线资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性,见表 1。

表 1 两组患者基线情况比较

Table 1 Comparison of baseline conditions between the two groups

Groups	Gender (Male/female)	Affected side (left/right)	Age (years)	Course of disease (months)
Control group(n=30)	3/27	14/16	27.87 $\pm$ 5.93	3.61 $\pm$ 6.12
Observation group(n=30)	5/25	14/16	28.70 $\pm$ 5.62	4.13 $\pm$ 10.96
T value	0.577	0.000	-0.559	-0.224
P value	0.448	1.000	0.579	0.823

### 1.2 治疗方法

观察组术前 2 周开始口服六味地黄丸组方的汤剂(广东省中医院珠海医院药房提供,组方:熟地黄 20 克,山茱萸 15 克,山药 15 克,泽泻 10 克,茯苓 10 克,牡丹皮 10 克,水煎服),每日 1 剂,术后继续服用汤剂 1 月。对照组不服用药物。两组均按照科室制定的康复方案进行康复训练。

### 1.3 手术取材

每一位研究对象在手术前均签署知情同意书。手术麻醉,术区消毒铺巾后,在膝关节镜下采集损伤之腱骨界面处 ACL 组织,大小至少 2 mm $\times$  2 mm $\times$  2 mm,用无菌标本袋包裹,尽快转移至 -80  $^{\circ}$ C 冰箱,待样收集完成后进行一次性检测。

### 1.4 实验材料及方法

1.4.1 实验仪器 QuantStudio5 Real-time PCR System (Applied Biosystems); Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems)。

1.4.2 实验试剂 RNA 酶抑制剂 (Epicentre); SuperScript<sup>TM</sup> III Reverse Transcriptase (Invitrogen); 2X PCR master mix (Ar-

raystar); 2.5 mM dNTP 混合液 (dATP, dGTP, dCTP 和 dTTP 各 2.5 mM) (HyTest Ltd); Primer (英骏生物技术有限公司)。

1.4.3 实验方法 采用 TRI Reagent、氯仿等试剂提取两组 ACL 组织的 RNA,用 NanoDrop<sup>®</sup> ND-1000 测定 RNA 的浓度和纯度,使用样品的 RNA 进行 cDNA 合成,制备用于绘制标准曲线的梯度稀释 DNA 模板,采用 Primer5.0 生物软件进行基因引物设计,设计的引物信息如表 2 所示。将所有 cDNA 样品分别配置 Realtime PCR 反应体系,加样后置于 Realtime PCR 仪上进行 PCR 反应。所有的指标均按以下程序进行: 95 $^{\circ}$ C, 10 min; 40 个 PCR 循环(95 $^{\circ}$ C, 10 秒; 60 $^{\circ}$ C, 60 秒(收集荧光))。为了建立 PCR 产物的熔解曲线,扩增反应结束后,按 (95 $^{\circ}$ C, 10 秒; 60 $^{\circ}$ C, 60 秒; 95 $^{\circ}$ C, 15 秒); 并从 60 $^{\circ}$ C 缓慢加热到 99 $^{\circ}$ C (仪器自动进行 -Ramp Rate 为 0.05 $^{\circ}$ C/秒)。各样品的目的基因和管家基因分别进行 Realtime PCR 反应,根据绘制的梯度稀释 DNA 标准曲线,各样品目的基因和管家基因的浓度结果直接由机器生成。

表 2 引物信息

Table 2 Primer information

Gene	Primer sequences	Annealing temperature(°C)	Product length(bp)
β-actin(H)	F:5' GTGGCCGAGGACTTTGATTG 3'	60	73
	R:5' CCTGTAACAACGCATCTCATATT 3'		
BMP-2	F:5' CGTGCTTCTTAGACGGACTG3'	60	77
	R:5' GCAGCAACGCTAGAAGACA3'		
TGF-β1	F:5' CCGACTACTACGCCAAGGA3'	60	247
	R:5' CTGAGGTATCGCCAGGAAT3'		

1.5 临床观察指标

1.5.1 IKDC 评分 由疼痛、肿胀、交锁、打软腿、活动程度、主观功能项目共 6 项问题组成,总分为 0-100 分,总分值越高评价越好。评估时间为术前、术后 2 周、1 月、3 月<sup>[89]</sup>。

1.5.2 Lysholm 评分 由疼痛、不安定度、闭锁感、肿胀度、跛行、楼梯攀爬、蹲姿、使用支撑物共 8 项问题组成,总分为 0-100 分,总分值越高评价越好。评估时间为术前、术后 2 周、1 月、3 月<sup>[10]</sup>。

1.5.3 安全性评估 评估两组患者术后康复过程中不良事件发生情况,观察指标包括深静脉血栓形成以及关节感染的发生情况,一旦可疑发生上述两种不良事件,即刻终止试验,完善相关检查并及时给予处理。

1.6 统计学处理

用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料符合正态分布

以( $\bar{x} \pm s$ )表示,计数资料以频数(f)表示,两组间均值比较,符合正态分布的先进行方齐性 F 检验,若方差齐采用 t 检验,若方差不齐采用 t' 检验;不符合正态分布的采用 Mann-Whitney U 检验进行比较。多次重复测量计量资料比较采用重复测定方差分析,先进行 Mauchly's W 球形方差齐性检验,若方差不齐采用 Greenhouse-Geisser 检验进行主体内效应分析及主体间效应分析,再采用 Boferrioni 检验进行组间总体均值比较。两组间计数资料比较采用 Mann-Whitney U 检验。检验水准为  $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 两组 ACL 组织 RT-qPCR 检测结果比较

观察组 TGF-β1 基因表达高于对照组,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。两组 BMP-2 基因表达比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ),见表 3。TGF-β1 和 BMP-2 扩增曲线见图 1、图 2。

表 3 两组 ACL 组织 TGF-β1 和 BMP-2 基因表达( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Expression of TGF-β1 and BMP-2 genes in ACL tissues of two groups( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	TGF-β1	BMP-2
Control group(n=30)	0.06± 0.05	0.11± 0.14
Observation group(n=30)	0.09± 0.06	0.13± 0.12
T value	-2.092	-0.520
P value	0.041	0.605

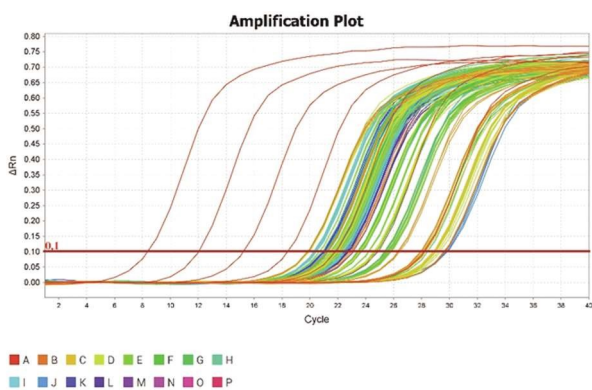


图 1 TGF-β1 扩增曲线

Fig.1 Amplification curve of TGF-β1

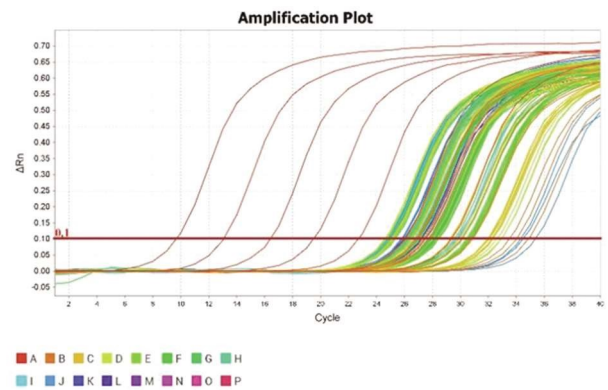


图 2 BMP-2 扩增曲线

Fig.2 Amplification curve of BMP-2

2.2 两组 IKDC 评分比较

两组术前 IKDC 评分比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。经重复测量方差分析,方差不齐 (Mauchly's  $W=0.312, P=0.$

000),固采用 Greenhouse-Geisser 检验进行组内效应(主体内效应)分析,两组 IKDC 评分与治疗时间之间有显著性交互效应 ( $F=7.691, P=0.005$ ),组间效应(主体间效应的检验)分析,两组

IKDC 评分总体均值有显著性差异( $F=16.778, P=0.000$ )。多重比较,两组术后 1 周 - 术后 1 月,术后 1 月 - 术后 3 月 IKDC 评分有显著性差异( $P=0.000$ );与对照组比较,治疗组术后 1 月、术后 3 月 IKDC 评分有显著性差异( $P=0.000$ ),见表 4。

表 4 两组 IKDC 评分比较( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 4 Comparison of IKDC scores between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	IKDC scores			
	Before operation	1 week after operation	1 month after operation	3 months after operation
Control group(n=30)	20.27± 3.89	18.45± 2.47	24.10± 2.45°	52.47± 4.16°
Observation group(n=30)*	20.60± 4.04	19.07± 2.10	26.53± 2.32° °	56.73± 4.40° °
T value	-0.325	-0.844	-3.950	-3.859
P value	0.746	0.402	0.000	0.000

Note: Population mean compared with the control group, \* $P<0.05$ . Compared with 1 week after operation, °  $P<0.05$ . Compared with 1 month after operation, °  $P<0.05$ . Compared with the control group, ° °  $P<0.01$ .

### 2.3 两组 Lysholm 评分比较

两组术前 Lysholm 评分比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。经重复测量方差分析,方差不齐(Mauchly's  $W=0.831, P=0.005$ ),固采用 Greenhouse-Geisser 检验进行组内效应(主体内效应)分析,两组 Lysholm 评分与治疗时间之间有显著性交互效应( $F=10.398, P=0.000$ ),组间效应(主体间效应的检验)分

析, 两组 Lysholm 评分总体均值有显著性差异( $F=40.096, P=0.000$ )。多重比较,两组术后 1 周 - 术后 1 月,术后 1 月 - 术后 3 月 Lysholm 评分有显著性差异( $P=0.000$ );与对照组比较,治疗组术后 1 月、术后 3 月 Lysholm 评分有显著性差异( $P=0.000$ ),见表 5。

表 5 两组 Lysholm 评分比较( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 5 Comparison of Lysholm scores between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	Lysholm scores			
	Before operation	1 week after operation	1 month after operation	3 months after operation
Control group(n=30)	43.50± 3.54	41.33± 3.21	49.03± 3.28°	63.97± 3.91°
Observation group(n=30)*	42.77± 3.40	42.73± 3.11	52.97± 3.61° °	70.50± 3.77° °
T value	0.818	-1.717	-4.423	-6.592
P value	0.417	0.091	0.000	0.000

Note: Population mean compared with the control group, \* $P<0.05$ . Compared with 1 week after operation, °  $P<0.05$ . Compared with 1 month after operation, °  $P<0.05$ . Compared with the control group, ° °  $P<0.01$ .

### 2.4 安全性评估

两组患者在治疗期间均未发生不良事件。

## 3 讨论

交叉韧带重建术后腱骨愈合是一个复杂且缓慢的过程。移植的肌腱与骨面接触形成腱骨界面,然后逐渐建立起稳定的腱骨关联,这个过程约需要 1 年时间<sup>[11]</sup>。其中,约在术后 2 周后,由于骨道内组织缺损,而移植体因缺乏血供而开始坏死,是腱骨界面结合最脆弱的时期;约在肌腱移植后 1 月时,移植体完全坏死,是移植体最脆弱的时期,也是交叉韧带重建术后失效的最危险的时期,但在这段时间会同时伴随着骨道内新生骨成形、移植体新生血管长入等变化,研究表明新生骨成形与新生血管对腱骨愈合有重要影响,新生血管形成一直被认为是腱骨愈合的基础,充分的血供一方面能将血液中的大量间充质干细胞带入腱骨界面,促进内源性骨形成蛋白的分泌和成骨诱导,另一方面也为新骨和胶原纤维生成提供所需的细胞因子和

营养物质,最终促进了新骨和胶原纤维的大量生成与成熟<sup>[12-14]</sup>, Ntoulia A 等<sup>[15]</sup>证实血管化程度的提高能够显著提升腱骨界面间组织愈合程度和生物力学性能。此外,骨形成也被认为是腱骨愈合的重要生物基础,彭时雨<sup>[16]</sup>认为 ACL 重建术后腱骨愈合主要分为三个过程,即腱骨界面形成纤维组织连接、新骨形成并向肌腱内长入和局部塑型改造,其中腱骨界面骨形成的过程与骨折术后骨折的愈合过程有一定的相似性,促进新生骨形成有助于促进腱骨界面愈合。

腱骨愈合受到多种因素影响,其中增强相关生长因子活性、加入自体骨膜、运用中药治疗等措施可加快腱骨愈合<sup>[17-19]</sup>。生长因子是一类具有促进细胞分化与成熟、促进新生血管形成等作用的细胞因子,其中 TGF- $\beta$ 1、BMP-2 被证实具有诱导、调节骨生成能力,同时在腱骨愈合及肌腱修复过程中起到积极作用,因此受到了研究者较多的关注<sup>[20,21]</sup>。Wang R 等<sup>[22]</sup>进行新西兰兔动物实验,发现应用上调 TGF- $\beta$  表达的骨髓间充质干细胞可通过 TGF- $\beta$ /MAPK 信号通路促进 ACL 重建术后腱骨愈

合。Yamazaki S 等<sup>[23]</sup>研究表明 ACL 重建后在骨隧道口加入外源性 TGF- $\beta$ 1, 术后 3 周即可发现腱骨连接处有更高的强度, 并认为其效果可能是依靠促进胶原纤维和新骨形成来实现。Lee KW 等<sup>[24]</sup>利用含有重组人 BMP-2 的胶原蛋白凝胶注入兔腱骨界面, 术后第 6 周组织学观察即可发现腱骨界面处有纤维软骨与新骨形成, 影像学可发现有斑点样钙化及纤维组织产生。Chen B 等<sup>[25]</sup>使用 bFGF/BMP2 转基因的骨髓间充质干细胞可促进 ACL 重建术后腱骨愈合。此外, Tachi K 等<sup>[26]</sup> 研究表明 TGF- $\beta$ 1 可促进 BMP-2 诱导的异位骨化, 调节成骨细胞与破骨细胞之间的代谢, 说明 TGF- $\beta$  与 BMP 信号在成骨分化过程中能相互作用。因此, 应用生长因子 TGF- $\beta$ 、BMP-2 可有效促进腱骨愈合, 目前最常见的方法是在腱骨界面注入外源性生长因子, 然而通过调节体内内源性生长因子的研究尚少有报道。本研究纳入 ACL 损伤患者, 观察其术前服用六味地黄丸组方后, 术中取出的腱骨界面处 ACL 组织处内源性生长因子 TGF- $\beta$ 1、BMP-2 水平。结果表明, 术前服用中药 2 周即可有效提高 ACL 组织 TGF- $\beta$ 1 基因表达水平, 这为 ACL 重建术后腱骨愈合提供了良好的条件, 然而术前服用中药 2 周对于 ACL 组织 BMP-2 基因表达无影响, 这可能与术前服药时长较短有关, 因此需要完善方案设计, 延长术前服药时间后进一步观察。

祖国医学认为肾主骨、生髓, 创伤导致骨损筋伤, 手术导致精血耗损。创伤及手术后的筋骨修复主要依赖于肾主骨、生髓的作用, 修复过程多耗损肾精, 若肾精不足, 则骨骼、筋脉无以濡养, 腱骨愈合将受到影响。六味地黄丸组方由熟地黄、山药、山茱萸、牡丹皮、茯苓、泽泻六味中药组成, 具有滋阴补肾的作用<sup>[27]</sup>, 最早见于自钱乙的《小儿药证直诀》, 在骨折科临床应用方面, 多用于改善骨质疏松骨代谢<sup>[28,29]</sup>、促进骨折愈合<sup>[7,30]</sup>等方面。既往动物实验研究表明, 六味地黄丸在改善兔 ACL 重建术后腱骨愈合组织学及生物力学方面都具有良好的效果<sup>[31,32]</sup>。本研究结果表明六味地黄丸化裁方可有效提高腱骨界面处交叉韧带组织内源性 TGF- $\beta$ 1 基因表达水平, 这可能是该药促进 ACL 重建术后腱骨愈合的分子生物学基础。

此外, 腱骨愈合是影响 ACL 重建术后的疗效的最主要的生物学因素, 既往已有研究表明六味地黄丸对 ACL 重建后腱骨愈合具有促进作用, 可增强移植植物在关节内的再生能力, 并可提高术后远期 Lysholm 客观评分及 IKDC 主观评分<sup>[6]</sup>。本研究结果也表明六味地黄丸组方可改善术后近期 Lysholm 客观评分及 IKDC 主观评分, 并可改善关节活动度, 这与以往研究结论相符, 围手术期全程服用六味地黄丸组方能有效促进腱骨愈合, 改善术后功能康复。

综上所述, 本研究以中医“肾主骨生髓”为理论指导, 研究六味地黄丸组方对 ACL 重建术后腱骨愈合的影响, 研究结果表明六味地黄丸组方可提高 ACL 损伤患者腱骨界面处 ACL 组织 TGF- $\beta$ 1 基因表达, 促进 ACL 重建术后关节功能康复。

#### 参考文献(References)

- [1] Grassi A, Pizza N, Zambon Bertoja J, et al. Higher risk of contralateral anterior cruciate ligament (ACL) injury within 2 years after ACL reconstruction in under-18-year-old patients with steep tibial plateau slope [J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2021, 29 (6): 1690-1700
- [2] Grassi A, Kim C, Marcheggiani MGM, et al. What Is the Mid-term Failure Rate of Revision ACL Reconstruction? A Systematic Review [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2017, 475(10): 2484-2499
- [3] Clare LA, Nicholas FT, Julian AF, et al. Return-to-Sport Outcomes at 2 to 7 Years After Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Surgery[J]. *Am J Sports Med*, 2012, 40(1): 41-48
- [4] 李春宝, 薛超, 齐玮, 等. 金葡素促进兔前交叉韧带重建后腱骨愈合的实验研究[J]. *中国骨伤*, 2017, 30(6): 538-544
- [5] 钱利海, 梁清宇. 前交叉韧带重建术后腱-骨愈合的生物学研究进展[J]. *中华解剖与临床杂志*, 2018, 23(3): 272-276
- [6] 杨伟毅, 潘建科, 谢辉, 等. 补肾法对前交叉韧带重建后腱-骨愈合的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(4): 591-597
- [7] 罗祖军. 六味地黄丸对下颌骨骨折术后相关基因表达的影响[J]. *广东医学*, 2010, 31(15): 2027-2028
- [8] Williams T, Burley D, Evans L, et al. The structural validity of the IKDC and its relationship with quality of life following ACL reconstruction[J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2020, 30(9): 1748-1757
- [9] Hefti F, Muller W, Jakob RP, et al. Evaluation of knee ligament injuries with the IKDC form [J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 1993, 1(3-4): 226-234
- [10] Bengtsson J, Möllborg J, Werner S. A study for testing the sensitivity and reliability of the Lysholm knee scoring scale[J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 1996, 4(1): 27-31
- [11] Rothrauff BB, Tuan RS. Cellular therapy in bone-tendon interface regeneration[J]. *Organogenesis*, 2014, 10(1): 13-28
- [12] 李春宝, 薛超, 齐玮, 等. 金葡素促进兔前交叉韧带重建后腱骨愈合的实验研究[J]. *中国骨伤*, 2017, 30(6): 538-544
- [13] Chen RJ, Zhu HZ, Gu XY, et al. Effects of Platelet-Rich Plasma on Tendon-Bone Healing After Anterior Cruciate Ligament Reconstruction[J]. *Orthop Surg*, 2022, 14(1): 88-95
- [14] Zhao X, Zhou Y, Li J, et al. Opportunities and challenges of hydrogel microspheres for tendon-bone healing after anterior cruciate ligament reconstruction [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2022, 110(2): 289-301
- [15] Ntoulia A, Papadopoulou F, Ristanis S, et al. Revascularization process of the bone-patellar tendon-bone autograft evaluated by contrast-enhanced magnetic resonance imaging 6 and 12 months after anterior cruciate ligament reconstruction[J]. *Am J Sports Med*, 2011, 39(7): 1478-1486
- [16] 彭时雨. 三七总皂苷对前交叉韧带重建术后早期腱骨愈合界面的影响[D]. 中国中医科学院, 2017
- [17] 杨伟毅, 梁浩东, 潘建科, 等. 中西医疗法促进前交叉韧带重建后腱骨愈合的研究进展[J]. *现代医院*, 2018, 18(8): 1211-1215
- [18] 孙畅, 郭亭, 李林涛, 等. 前交叉韧带重建术后腱骨愈合的生物学干预研究进展[J]. *中华骨与关节外科杂志*, 2020, 13(10): 863-869
- [19] 吴冰霜, 汪志, 唐懿, 等. 前交叉韧带重建: 从腱骨止点到腱骨愈合的研究进展[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(8): 1354-1360
- [20] Han L, Hu YG, Jin B, et al. Sustained BMP-2 release and platelet rich fibrin synergistically promote tendon-bone healing after anterior cruciate ligament reconstruction in rat [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(20): 8705-8712
- [21] 史晓伟, 周学兰. TGF- $\beta$ 1 多效性与肌腱修复研究进展[J]. *中国运动医学杂志*, 2016, 35(6): 588-593

- [22] Wei B, Wang C, Yan C, et al. Osteoprotegerin/bone morphogenetic protein 2 combining with collagen sponges on tendon-bone healing in rabbits[J]. *J Bone Miner Metab*, 2020, 38(4): 432-441
- [22] Wang R, Xu B, Xu H. Up-Regulation of TGF- $\beta$  Promotes Tendon-to-Bone Healing after Anterior Cruciate Ligament Reconstruction using Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells through the TGF- $\beta$ /MAPK Signaling Pathway in a New Zealand White Rabbit Model[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(1): 213-226
- [23] Yamazaki S, Yasuda K, Tomita F, et al. The Effect of Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 on Intraosseous Healing of Flexor Tendon Autograft Replacement of Anterior Cruciate Ligament in Dogs [J]. *Arthroscopy*, 2005, 21(9): 1034-1041
- [24] Lee KW, Lee JS, Jang JW, et al. Tendon-bone interface healing using an injectable rhBMP-2-containing collagen gel in a rabbit extra-articular bone tunnel model [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(5): 1435-1441
- [25] Chen B, Li B, Qi Y, et al. Enhancement of tendon-to-bone healing after anterior cruciate ligament reconstruction using bone marrow-derived mesenchymal stem cells genetically modified with bFGF/BMP2 [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 25940
- [26] Tachi K, Takami M, Sato H, et al. Enhancement of bone morphogenetic protein-2-induced ectopic bone formation by transforming growth factor-beta1[J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(5-6): 597-606
- [27] 林茂堂. 六味地黄丸(汤)药理研究及临床应用新进展[J]. *内蒙古中医药*, 2017, 36(14): 135-136
- [28] 王雷, 李盛华. 六味地黄丸治疗绝经后骨质疏松症作用机制[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2021, 27(7): 1042-1049
- [29] 吴瑞锋, 马胜利, 于乐. 六味地黄丸对肾阴虚型骨质疏松老年患者骨钙素及骨密度的影响[J]. *世界中医药*, 2016, 11(10): 2043-2046
- [30] 徐玉春, 何远飞, 张明星, 等. 六味地黄丸对 Pilon 骨折术后骨愈合的影响[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2017, 15(23): 97-99
- [31] 杨伟毅. 补肾中药对前交叉韧带重建术后腱-骨愈合的影响[D]. 广州中医药大学, 2015
- [32] 刘罕, 杨伟毅, 潘建科, 等. 补肾中药促进兔前交叉韧带重建术后腱-骨愈合的组织学观察 [C]. // 中华中医药学会骨伤科分会学术年会暨全国中医骨伤科高峰论坛论文集, 2016: 51-58

(上接第 1150 页)

- [18] 刘俊峰, 高峰, 王东颖, 等. 轮状病毒肠炎儿童血锌水平变化及其与体液免疫的相关性研究[J]. *中国医药导报*, 2012, 9(3): 142-143
- [19] 宋冬梅, 刘俊峰, 黄军华, 等. 轮状病毒肠炎患儿体液免疫和血锌水平变化及其相关性分析 [J]. *中国误诊学杂志*, 2011, 11(34): 8384-8385
- [20] Azagra-Boronat I, Massot-Cladera M, Knipping K, et al. Strain-Specific Probiotic Properties of Bifidobacteria and Lactobacilli for the Prevention of Diarrhea Caused by Rotavirus in a Preclinical Model[J]. *Nutrients*, 2020, 12(2): 498
- [21] Fernandez-Duarte KP, Olaya-Galán NN, Salas-Cárdenas SP, et al. Bifidobacterium adolescentis (DSM 20083) and Lactobacillus casei (Lafti L26-DSL): Probiotics Able to Block the In Vitro Adherence of Rotavirus in MA104 Cells [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2018, 10(1): 56-63
- [22] 陈畅, 李韶菁, 唐仕欢, 等. 蜘蛛香药理研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(14): 2174-2177
- [23] Lv YJ, Hu QL, Huang R, et al. The Diagnostic and Therapeutic Value of the Detection of Serum Amyloid A and C-Reactive Protein in Infants with Rotavirus Diarrhea [J]. *Int J Gen Med*, 2021, 16(14): 3611-3617
- [24] 李鹏, 刘杰, 吴红丽, 等. 轮状病毒感染性腹泻患儿血清 CRP、心肌酶谱、肝功能的检测意义 [J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(27): 5302-5304, 5334
- [25] 赵丹妮, 孙欣, 周欣, 等. 一点红属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. *中成药*, 2019, 41(7): 1654-1661
- [26] 王淑珍. 轮状病毒感染腹泻并心肌损伤患儿心肌酶学指标变化及其危险因素[J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(6): 1294-1299
- [27] 余万辉, 徐言俊, 吴时光. 心肌酶谱检测在小儿轮状病毒腹泻诊治中的应用价值[J]. *中国临床医生杂志*, 2017, 45(8): 112-114
- [28] Wei W, Zhang L, Zhang Y, et al. Predictive value of creatine kinase MB for contrast-induced acute kidney injury among myocardial infarction patients[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2021, 21(1): 337
- [29] 莫秋萍, 卓柳安, 廖致红, 等. 血清 Gal-3、GDF-15、CK-MB 水平联合检测在急性心肌梗死并发恶性室性心律失常诊断和预后评估中的应用[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(6): 1128-1132
- [30] 乔里, 汪石丽, 关焕玉, 等. HPLC 法同时测定山栀茶中的 3 种萜类成分[J]. *中成药*, 2015, 37(11): 2448-2451